



Bijlage 6. Diagnostiek

Uitwerking diagnostiek bij patiënt met verdenking ebola/marburg

Deze bijlage is opgedeeld in verschillende onderdelen:

- Deel 1 gaat over de diagnostiek die plaats moet vinden om de verdenking van ebola/marburg te bevestigen of te verwerpen.
- Deel 2 gaat over differentiaal diagnostiek bij het Erasmus MC.
- Deel 3 gaat over klinisch chemisch en hematologisch onderzoek bij een patiënt met (verdenking van) ebola/marburg bij het Erasmus MC.

De subcommissie Diagnostiek van de LCI-redactieraad is gevraagd om de overige (differentiele) diagnostiek bij een (vermoedelijke) ebolapatiënt in zijn algemeenheid uit te werken.

Deel 1. Diagnostiek bij patiënt met verdenking van ebola/marburg

Materiaal voor ebola- en marburgdiagnostiek wordt naar het Erasmus MC en Bernhard-Nocht-Institut (BNI) gestuurd volgens het onderstaande algoritme.

Algoritme voor het wel of niet doorsturen van een van ebolavirus verdacht sample naar het BNI:

- Wanneer in een sample dat binnen 48 uur na het ontstaan van symptomen geen genoom van het ebolavirus wordt gedetecteerd bij het Erasmus MC, wordt het materiaal niet doorgestuurd naar het BNI.
Rationale: wanneer de patiënt binnen 48 uur na het ontstaan van symptomen wordt opgenomen, dan moet de patiënt toch in isolatie blijven en wordt bij aanhoudende symptomen toch een tweede sample onderzocht, die dan wel geconfirmeerd moet worden door het BNI in Hamburg.
- Een sample dat PCR-positief test bij het Erasmus MC in Rotterdam wordt altijd geconfirmeerd door het BNI in Hamburg
- Een sample dat ná 48 uur na het ontstaan van symptomen afgenomen is, wordt ongeacht een negatieve of positieve testuitslag bij het Erasmus MC in Rotterdam, sowieso doorgestuurd ter confirmatie naar BNI in Hamburg.

Toevoeging aan het algoritme: indien een sample afgenomen is (ongeacht het tijdstip, vóór of 48 uur ná het ontstaan van symptomen) en later blijkt dat de

patiënt op basis van het klinisch beeld uit isolatie wordt gehaald omdat hij/zij niet meer aan de casusdefinitie voldoet (bijv. geen koorts), dan wordt het sample niet meer ter confirmatie naar het BNI in Hamburg verstuurd.

Afspraken met BNI in Hamburg: ongeacht of het een sample van voor of na 48 uur na start van de symptomen is, wordt een positieve PCR uit het Erasmus MC in Rotterdam zsm geconfirmeerd. Een negatieve uitslag uit het Erasmus MC wordt de eerst volgende werkdag geconfirmeerd. Dit kan dus betekenen dat een negatieve ebolavirusuitslag uit het Erasmus MC van vrijdagnacht pas 2 dagen later geconfirmeerd wordt. In deze gevallen moet i.s.m.de LCI en behandelend artsen overwogen worden om de patiënt alleen op basis van de uitslag van het Erasmus MC in Rotterdam te ontslaan uit isolatie.

In verband met lopende (communicatie-)afspraken splitst het Erasmus MC bij voorkeur het materiaal zelf en verstuurt het materiaal naar het tweede referentielaboratorium (Bernhard-Nocht-Institut, Hamburg, Duitsland). Het Erasmus MC geeft dan, indien van toepassing, de gecombineerde uitslag van het Erasmus MC EN van het tweede referentie laboratorium door aan de dienstdoende viroloog van het desbetreffende centrum, de LCI en de betreffende GGD.

Indien het insturende centrum ervoor kiest om zelf het materiaal te splitsen en te versturen naar beide referentielaboratoria, wordt het insturende centrum verzocht om het Bernhard-Nocht-Institut te verzoeken om uitslagen ook naar het Erasmus MC te communiceren en zo nodig ook met het Erasmus MC te overleggen.

Voordat materialen worden afgenomen graag contact opnemen met de dienstdoende viroloog van het Erasmus MC op 06-33331009 tijdens kantooruren; indien geen gehoor of buiten kantooruren de dienstdoende viroloog oproepen via de telefoniste van het Erasmus MC op 010-7040704.

1. Af te nemen materialen

- 1 buis stolbloed afgenomen in grote stolbuis met gellaag (gele dop); minimaal 8 ml EN
- 1 buis EDTA volbloed afgenomen in grote EDTA buis (paarse dop); minimaal 8 ml.

Indien het niet mogelijk is om deze hoeveelheden bloed af te nemen, bijvoorbeeld bij kinderen, dan is de minimale hoeveelheid 2 ml volboed in een EDTA buis (paarse dop). NB: mocht het opwerken van het monster of de assay niet in 1 keer lukken dan is er te weinig materiaal om het monster te hertesten en kan er geen (betrouwbare) uitslag worden gegeven.

2. Verpakken afnamematerialen

Materialen kunnen op kamertemperatuur worden verzonden en worden verpakt volgens het “box-in-a-box” principe. Zie als voorbeeld:

<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/packaging-diagram.html>

Materiaal vervoeren als ‘Suspected Category A infectious substance, UN2814’ met verpakking die voldoet aan P620. Bij een bewezen ebolainfectie het materiaal vervoeren als ‘infectious substance, classified as Category A, UN2814’ met verpakking die voldoet aan P620.

3. Verzenden afnamematerialen

Materiaal van ebola- / marburg-verdachte patiënten moet worden verstuurd met een koeriersdienst met chauffeurs met een ADR certificaat voor transport van dit materiaal. Zo nodig kan het Erasmus MC hierbij adviseren.

Bij elk transport moeten de volgende formulieren aanwezig zijn (deze formulieren worden door Biologistics geregeld) :

- CMR (ADR vervoersdocument)
- ADR gevarenlabel
- adreslabel voor op de verpakking (met verzendadres, leveradres, UN2814 (infectious substance, Category A (Ebola virus)) en hoeveelheid (aantal ml).

Het materiaal dient afgeleverd te worden op het volgende adres:

*Erasmus MC, Afdeling Viroscience
Unit Klinische Virologie kamer NB-1052
Wytemaweg 80
3015 CN Rotterdam*

De adresgegevens en telefoonnummers van het Bernhard Nocht Instituut zijn:

*Bernhard Nocht Institut für Tropenmedizin (BNI)
Bernhard-Nocht-Strasse 74
20359 Hamburg
Duitsland
Telefoonnummer: +49 40 42818-0
Tel. +49 171 2127900 (dienstdoend viroloog).*

4. Diagnostiek

1. Ebola- / marburgdiagnostiek

Diagnostiek naar ebolavirus en marburgvirus wordt gedaan middels RT-PCR in twee referentie laboratoria.

1.1 Interpretatie uitslagen

Positieve test (ebolavirus/marburgvirus RNA aangetoond; gecombineerde uitslag EMC en 2^e referentielaboratorium): patiënt heeft een infectie met ebolavirus of marburgvirus.

Negatieve test (geen ebolavirus/marburgvirus RNA aangetoond):

- Indien de test negatief is EN het materiaal minimaal 48 uur na ontstaan van symptomen is afgenomen, dan heeft de patiënt geen infectie met ebolavirus of marburgvirus.
- Indien het materiaal afgenomen is tijdens de eerste 48 uur na ontwikkeling van symptomen EN de patiënt heeft nog steeds symptomen passend bij ebolavirus of marburgvirus infectie, dan is een infectie met ebolavirus of marburgvirus niet geheel uitgesloten. Er dient dan een tweede materiaal afgenomen te worden minimaal 48 uur na ontstaan van symptomen en minimaal 24 uur na afname van het eerste sample. Voor materiaal en verzending zie § 2 en § 3.
- Indien het materiaal afgenomen is tijdens de eerste 48 uur na ontwikkeling van symptomen EN patiënt heeft geen van de symptomen meer passend bij ebolavirus of marburgvirus infectie, dan heeft de patiënt geen infectie met ebolavirus of marburgvirus.
- Bovenstaand beleid is onafhankelijk van een eventuele alternatieve diagnose.

1.2 Vervolgdiagnostiek bij een laboratorium bevestigde ebolapatient

Na laboratoriumbevestiging van de ebolavirus-infectie is parallel testen bij het BNI te Hamburg en het Erasmus MC voor het vervolgen van de viral load niet meer nodig. Viral load monitoring bij het Erasmus MC volstaat.

Deel 2 Differentiaal diagnostiek door Erasmus MC

Differentiaal diagnostiek (bacteriologie, virologie), klinische chemie en hematologie kan verricht worden door het Erasmus MC. Het afnamemateriaal graag verpakken en verzenden zoals beschreven in deel 1, § 2 en § 3. Het verzoek is om vooraf telefonisch te overleggen met de dienstdoende viroloog van het EMC. In dat

overleg wordt besloten welke testen op welke dag uitgevoerd zullen worden, omdat niet alle testen op dezelfde dag kunnen worden uitgevoerd.

Bij patiënten met verdenking danwel bewezen Ebolavirus / Marburgvirus infectie kan Erasmus MC de volgende diagnostiek uitvoeren.

- **Sneltesten malaria en leptospirose**

Voor de sneltesten op malaria en leptospirose is geen extra materiaal nodig. Indien de sneltest op malaria positief is, dan wordt deze de eerst volgende werkdag geconfirmeerd middels real-time PCR (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*). Een positieve sneltest leptospirose wordt geconfirmeerd door het KIT; deze confirmatie kan ook plaatsvinden bij een ebola positieve patiënt.

Indien het niet mogelijk was om de gewenste hoeveelheden bloed af te nemen, bijvoorbeeld bij kinderen, dan zijn de minimale hoeveelheden:

- Voor de malaria sneltest + confirmatie: minimaal 250 µL EDTA bloed.
- Voor de leptospirose sneltest + confirmatie: minimaal 500 µL bloed in een stolbuis.

NB: mocht het opwerken van het monster of de assay niet in 1 keer lukken dan is er te weinig materiaal om het monster te hertesten en kan er geen (betrouwbare) uitslag worden gegeven.

- **Diagnostiek naar overige virussen middels PCR**

In overleg met de dienstdoende viroloog van het Erasmus MC kan een breed differentiaal diagnostisch virologie pakket worden aangeboden. Afhankelijk van het in te zetten pakket wordt in overleg bepaald welke (hoeveelheden) monsters daarvoor afgenomen worden.

Deel 3. Klinisch chemisch en hematologisch onderzoek bij een patiënt met (verdenking van) ebola/marburg bij het Erasmus MC

Bij behandeling van patiënten met (verdenking) ebola/marburg zijn ook vaak ondersteunende klinisch chemische en hematologische bepalingen nodig. Indien gewenst kan het Erasmus MC kan de volgende bepalingen uitvoeren.

Hematologie: volledig bloedbeeld. **Nodig:** 1 extra buis bloed afgenomen in een EDTA buis (paarse dop, 3 mL).

Bloedgroepbepaling omvat risicovolle handelingen welke moeten worden afgewogen tegen het risico op ernstige morbiditeit/mortaliteit bij “buiten

verantwoording" (Bloedtransfusierichtlijn 2011) gebruik van O Rhesus negatieve rode bloedcellen en AB plasma bij een (verdachte) ebolapatient. Laatstgenoemde toediening is een (inter)nationaal gebezigd alternatief. Erasmus MC voert ivm de veiligheidseisen geen bloedgroepbepaling uit. . Voor het het BNI geldt hetzelfde.

Klinische chemie: Na, K, Cl, Ca, ureum, glucose, ALAT, ASAT, GGT, alkalisch fosfatase, ureum, kreatinine, totaal bilirubine, albumine, urinezuur, amylase, CRP.
Nodig: 1 buis bloed afgenomen in een Li-heparine buis (groene dop, 3 mL).

Stolling: PT, INR, APTT, fibrinogeen. Stolling kan niet bepaald worden als er op dezelfde dag ook klinische chemie en/of hematologie gedaan wordt. **Nodig:** 1 buis bloed afgenomen in een citraat buis (blauwe dop, volle buis, minimaal 1.8 mL).

Indien het niet mogelijk is om de benodigde hoeveelheden bloed af te nemen, bijvoorbeeld bij kinderen, dan zijn de minimale hoeveelheden:

- **Hematologie:** volledig bloedbeeld. Minimaal 50 µL EDTA bloed.
- **Klinische chemie:** Na, K, Cl, Ca, ureum, glucose, ALAT, ASAT, GGT, alkalisch fosfatase, ureum, kreatinine, totaal bilirubine, albumine, urinezuur, amylase, CRP. Minimaal 300 µL Li heparine bloed.
- **Stolling:** PT, INR, APTT, fibrinogeen. Minimaal 1.8 mL citraat bloed.

NB: mochten de bepalingen niet in 1 keer lukken dan is er te weinig materiaal om de bepalingen opnieuw uit te voeren en kan er geen (betrouwbare) uitslag worden gegeven.

Geraadpleegde experts

- Dr. Jonas Schmidt-Chanasit, Bernard Nocht Institut für Tropenmedizin, Hamburg
- Prof.dr. Marion Koopmans, hoogleraar virologie, Erasmus MC Rotterdam
- Dr. Corine Geurts van Kessel, arts-microbioloog / viroloog, Erasmus MC Rotterdam
- Dr. J. van Kampen, arts-microbioloog, Erasmus MC Rotterdam
- Dr. A.A. van der Eijk, arts-microbioloog / viroloog, Erasmus MC Rotterdam
- Drs. S.D. Pas, moleculair bioloog, Erasmus MC Rotterdam
- Dr. J.L. A.N. Murk, arts-microbioloog / viroloog, UMC Utrecht
- Dr. B. Rockx, afdelingshoofd emerging infectious diseases, IDS, RIVM-Cib